Клиническая онкогематология. 2026;19(4):392–9

Clinical oncohematology. 2026;19(4):392–9

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

https://doi.org/10.21320/2500-2139-2026-19-4-392-399

https://doi.org/10.21320/2500-2139-2026-19-4-392-399

Анализ Т-клеточной клональности в диагностике кожных лимфом: сравнительная эффективность методов

Л.Г. Горенкова, Ю.В. Сидорова, Б.В. Бидерман, Н.В. Рыжикова, М.А. Моздон, Е.О. Терехова, З.М. Омарова, Е.Е. Звонков, А.Б. Судариков

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России, Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167

T-Cell Clonality Analysis in the Diagnosis of Cutaneous Lymphomas: Comparative Efficacy of Methods

L.G. Gorenkova, Yu.V. Sidorova, B.V. Biderman, N.V. Ryzhikova, M.A. Mozdon, E.O. Terekhova, Z.M. Omarova, E.E. Zvonkov, A.B. Sudarikov

National Research Center for Hematology, 4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

РЕФЕРАТ

АКТУАЛЬНОСТЬ. Клональная популяция Т-лимфоцитов — это потомки одного лимфоцита, имеющие одинаковую антигенспецифичность и идентичную нуклеотидную последовательность перестроенных генов Т-клеточного рецептора (TCR). Перестройки локусов TCR происходят последовательно в ходе дифференцировки Т-лимфоцитов: самая ранняя перестройка в гене *TRD*, затем — в *TRG*, *TRB* и *TRA*. Поскольку в большинстве Т-клеточных кожных лимфом, представленных в основном Т-клеточными вариантами αβ, все локусы генов TCR перестроены, для определения клональности методом ПЦР достаточно исследования локусов *TRG* и *TRB*. Одной из диагностических проблем является большая доля ложноотрицательных результатов (33–48 %) при начальных стадиях грибовидного микоза (ГМ), что обусловливает необходимость сравнить специфичность и чувствительность определения клональности по локусам *TRG* и *TRB* методом капиллярного электрофореза (КЭ), а также изучить диагностические возможности высокопроизводительного секвенирования (ВПС).

ЦЕЛЬ. Определить оптимальную тактику и методику выявления Т-клеточной клональности в биоптатах кожи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Исследование выполнено на 161 кожном биоптате методом КЭ и на 31 кожном биоптате методами КЭ и ВПС.

ABSTRACT

BACKGROUND. A clonal population of T-lymphocytes consists of single-lymphocyte progenies with the same antigen specificity and identical nucleotide sequence of rearranged T-cell receptor (TCR) genes. The TCR locus rearrangement occurs sequentially during T-lymphocyte differentiation: the earliest rearrangement is in the *TRD* gene, followed by *TRG*, *TRB*, and *TRA*. Since in most T-cell cutaneous lymphomas, which are primarily of αβ T-cell type, all TCR loci are rearranged, it is sufficient to analyze the *TRG* and *TRB* loci using PCR to determine clonality. One of the diagnostic issues is a high rate of false-negative results (33–48 %) at the early stages of mycosis fungoides (MF), which shows a clear need to compare specificity and sensitivity of clonality determination by *TRG* and *TRB* loci using capillary electrophoresis (CE) as well as to study the diagnostic potential of high-throughput sequencing (HTS).

AIM. To figure out the best strategy and method for identifying T-cell clonality in skin biopsies.

MATERIALS & METHODS. This study is based on analyzing 161 skin biopsies by CE and 31 skin biopsies by CE and HTS.

RESULTS. The results of CE for *TRG* and *TCB* genes were consistent in 88 % (141 out of 161) of the samples studied: 71 *TRG*+/*TRB*+, 69 *TRG*–/*TRB*–, and 1 *TRG*±/*TRB*±. In 14 out of 16 discordant cases with evidence of monoclonality at

© «Практическая медицина» 2026. Данная статья распространяется на условиях «открытого доступа», в соответствии с лицензией CC BY-NC-SA 4.0 («Attribution-NonCommercial-ShareAlike» / «Атрибуция-Некоммерчески-СохранениеУсловий» 4.0), которая разрешает неограниченное некоммерческое использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии указания автора и источника. Чтобы ознакомиться с полными условиями данной лицензии на русском языке, посетите сайт: https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.ru

РЕЗУЛЬТАТЫ. Результаты КЭ по генам *TRG* и *TCB* совпали в 88 % (141 из 161) исследованных образцов: 71 *TRG*+/*TRB*+, 69 *TRG*–/*TRB*–, 1 *TRG*±/*TRB*±. В 14 из 16 дискордантных случаев при наличии моноклонального результата по одному из локусов была диагностирована Т-клеточная лимфома. У пациентов с сомнительной клональностью по одному из локусов, но поликлональным результатом по другому локусу было доказано неопухолевое поражение кожи. Для сравнения методов КЭ и ВПС проанализировано 14 образцов кожи (12 пациентов) и 11 образцов периферической крови у пациентов с ГМ, а также 17 образцов кожи у пациентов с неопухолевыми дерматозами по локусам *TRG* и *TRB*. При сопоставлении результатов КЭ и ВПС принципиальных различий в оценке клональности не выявлено: у пациентов с поликлональным результатом КЭ отмечалось разнообразие клональных продуктов при ВПС с доминирующим клоном менее 6,1 % и, наоборот, при моноклональном результате КЭ определялся доминирующий клон *TRG* или *TRB* с аллельной нагрузкой более 5,5 % при ВПС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Для оценки клональности в биоптатах кожи с подозрением на кожную Т-клеточную лимфому достаточно проводить КЭ с исследованием локуса *TRG*, в случае отрицательного ответа — дополнительно изучать локус *TRB*. Применение ВПС оправдано при начальных стадиях ГМ с нетипичным агрессивным течением болезни, когда необходимо обеспечить количественную оценку клонального продукта в пораженном участке или оценить минимальную диссеминированную болезнь.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кожные лимфомы, Т-клеточная клональность, ПЦР, капиллярный электрофорез, высокопроизводительное секвенирование.

Получено: 9 января 2026 г.
Принято в печать: 3 сентября 2026 г.

Для переписки: Лилия Гамилевна Горенкова, канд. мед. наук, Новый Зыковский пр-д, д. 4, Москва, Российская Федерация, 125167; e-mail: l.aitova@mail.ru

Для цитирования: Горенкова Л.Г., Сидорова Ю.В., Бидерман Б.В. и др. Анализ Т-клеточной клональности в диагностике кожных лимфом: сравнительная эффективность методов. Клиническая онкогематология. 2026;19(4):392–9. doi: 10.21320/2500-2139-2026-19-4-392-399.

CONCLUSION. In skin biopsis with cutaneous T-cell lymphoma suspicion, CE analysis of *TRG* locus is sufficient to report clonality; if the result is negative, *TRB* locus should be analyzed as well. The use of HTS is well justified at the early MF stages with atypically aggressive course, when it is required to provide a quantitative assessment of the clonal product in an affected area or to evaluate minimal disseminated disease.

KEYWORDS: cutaneous lymphomas, T-cell clonality, PCR, capillary electrophoresis, high-throughput sequencing.

Received: January 9, 2026
Accepted: September 3, 2026

For correspondence: Liliya Gamilevna Gorenkova, MD, PhD, 4 Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167; e-mail: l.aitova@mail.ru

For citation: Gorenkova L.G., Sidorova Yu.V., Biderman B.V., et al. T-Cell Clonality Analysis in the Diagnosis of Cutaneous Lymphomas: Comparative Efficacy of Methods. Clinical oncohematology. 2026;19(4):392–9. (In Russ). doi: 10.21320/2500-2139-2026-19-4-392-399.

ВВЕДЕНИЕ

В процессе созревания лимфоцитов происходит ряд последовательных молекулярных событий. Для Т-лимфоцитов важная часть этой молекулярной «эволюции» включает реаранжировку или перестройку генов Т-клеточного рецептора (TCR), которая заключается в случайной рекомбинации V- (вариабельных), J- (соединительных), D-генных (отвечающих за разнообразие) сегментов локуса и формировании уникального по нуклеотидному составу CDR3-региона, который на белковом уровне соответствует антигенсвязывающей области TCR [1, 2]. Клональная популяция Т-лимфоцитов — это потомки одного лимфоцита, имеющие одинаковую антигенспецифичность и идентичную нуклеотидную последовательность перестроенных генов TCR. В клинической практике исследование генов TCR преследует несколько целей: 1) определение моноклональности может указывать на то, что злокачественный лимфоидный процесс с неопределенной линейной иммунофенотипической специфичностью, вероятно, имеет Т-клеточное происхождение; 2) выявление

моноклональности как диагностического маркера, когда злокачественность лимфоидного поражения не определена патоморфологически; 3) обнаружение моноклонального опухолевого продукта в крови или любой другой ткани после химиотерапии служит доказательством лейкемизации или диссеминации процесса [3–5]. Очевидно, что при этом моноклональный продукт должен совпадать по нуклеотидной последовательности (в случае метода секвенирования) или по длине (в случае метода фрагментного анализа) с продуктом, обнаруженным в первичном биопсийном материале. В сложных случаях выявление одинаковой моноклональной реаранжировки может служить доказательством того, что два, казалось бы различных, Т-клеточных лимфопролиферативных заболевания происходят из одной и той же злокачественной клональной популяции [6–8]. В частных случаях, таких как кожные лимфомы, клональность также используют для определения поражения регионарных лимфатических узлов [9, 10].

Тестирование клональности по реаранжировкам генов TCR началось в середине 1980-х годов, когда в нескольких публикациях была отмечена диагностическая значимость данного исследования, в т. ч. при кожных лимфомах [11–13]. После того как трудоемкий и малочувствительный саузерн-блоттинг сменился полимеразной цепной реакцией (ПЦР), последняя вошла в рутинную практику [14, 15]. Показана высокая специфичность обнаружения клональности по реаранжировкам генов TCR в тех случаях, когда необходимо провести дифференциальную диагностику между Т-клеточными лимфопролиферативными заболеваниями и неопухолевыми процессами [16–18]. В последние годы помимо электрофоретических методов определения клональности, в частности капиллярного электрофореза (КЭ), популярность набирают методы высокопроизводительного секвенирования (ВПС) [19–21]. Необходимо также отметить, что клональность Т-лимфоцитов можно определить по нескольким локусам генов TCR.

У людей существует четыре типа мономеров TCR: белки α, β, γ и δ. Белки α, β, γ и δ кодируются локусами α (*TRA*), β (*TRB*), γ (*TRG*) и δ (*TRD*) соответственно [22]. Подавляющее большинство Т-клеток в периферических лимфоидных органах и большинство циркулирующих (> 95 %) Т-клеток относятся к αβ-клеткам, меньшинство — к Т-лимфоцитам γδ, которые представлены преимущественно в эпителиальных тканях [23]. Перестройки локусов TCR происходят последовательно в ходе развития Т-лимфоцитов: самая ранняя в гене *TRD*, затем следуют *TRG*, *TRB* и *TRA*. В большинстве Т-клеточных кожных лимфом, представленных Т-клеточными опухолями αβ, все локусы генов TCR перестроены, при этом для определения клональности методом ПЦР достаточно исследования локусов *TRG* и *TRB* [24]. Локусы *TRA* и *TRD* малоприменимы для рутинного анализа: *TRA* не содержит высоковариабельный D-сегмент, что снижает диагностическую точность исследования, а *TRD* часто утрачивается из-за биаллельной делеции при реаранжировке *TRA* [24].

При кожных лимфомах (самая распространенная форма — грибовидный микоз, ГМ) дифференциальная диагностика между неопухолевыми дерматозами (такими, как атопический дерматит, мелко/крупнобляшечный парапсориаз и т. п.) и ГМ представляет определенную сложность. Обнаружение моноклональных пиков зачастую служит подтверждением опухолевой природы заболевания [15, 25–27]. Однако доля ложноотрицательных результатов при начальных стадиях ГМ достигает 33–48 % [28–30]. Кроме того, при неопухолевых дерматозах возможно выявление клональных продуктов (ложноположительный результат) примерно в 10–26 % случаев [30–33]. При анализе клональности по двум локусам (*TRB* и *TRG*) чувствительность и специфичность ее определения возрастает, поэтому комплексная оценка нескольких генов TCR является предпочтительной [25, 33].

Таким образом, актуальность сравнения специфичности и чувствительности определения клональности по локусам *TRG* и *TRB* методом КЭ, а также обсуждение диагностических возможностей ВПС не вызывает сомнений.

Цель настоящего исследования — определить оптимальную тактику и методику выявления Т-клеточной клональности в биоптатах кожи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты и образцы

В исследовании определяли клональность по локусам *TRG* и *TRB* методом КЭ в биоптатах кожи 161 пациента, обратившегося в ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России с 2011 по 2022 г. для дифференциальной диагностики между реактивными дерматозами и опухолевым поражением кожи при лимфомах. Диагноз заболевания ставили по данным клинико-лабораторного, иммуноморфологического и молекулярно-генетического исследований в соответствии с классификацией лимфоидных опухолей ВОЗ 2017 г. [34].

Определение клональности параллельно двумя методами (КЭ и ВПС) выполнено у 29 пациентов: с начальной IA–IIA стадией ГМ (n = 7), распространенной IV стадией ГМ (n = 2), эритродермическими формами ГМ (n = 3) и неопухолевыми дерматозами (n = 17). У 2 пациентов с начальными стадиями ГМ и исходным отсутствием Т-клеточной клональности исследование проводилось в динамике при прогрессировании заболевания: через 10 и 4 года с момента первичной биопсии соответственно.

Во всех случаях для ВПС использовалась ДНК, выделенная из свежих биоптатов кожи. Выделение ДНК из биоптатов кожи осуществляли путем растворения ткани в 25% растворе аммиака с последующей нейтрализацией и одновременным высаливанием белков уксусной кислотой, осаждением ДНК в изопропиловом спирте и очищением от солей 70% этиловым спиртом [35]. Количество полученной ДНК измеряли на флюориметре Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США). Всем больным ГМ, кроме пациентов с эритродермическими формами, параллельно выполнялось исследование клональности методами КЭ и ВПС на образцах ДНК периферической крови. Выделение ДНК из клеток периферической крови проводили методом, описанным ранее [36].

Определение Т-клеточной клональности методом капиллярного электрофореза

Оценку Т-клеточной клональности проводили по реаранжировкам генов *TRG* (Vγ-Jγ) и *TRB* (Vβ-Jβ, Dβ-Jβ). Для амплификации пользовались мультиплексными системами праймеров из протокола BIOMED-2, модифицированных флюоресцентной меткой [37]. Затем выполняли КЭ высокого разрешения на полимере ПДМА-6 (ЗАО «Синтол», Россия) и последующий фрагментный анализ на генетическом анализаторе «Нанофор-05» (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия). Флюоресценция амплификатов и их профиль (распределение по длинам) оценивались с помощью компьютерной программы GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems, США).

Высокопроизводительное секвенирование

Таргетное ВПС локусов *TRG* и *TRB* осуществлялось на приборе MiSeq (Illumina, США) с использованием наборов MiSeq Reagents Kit v2 — 300 cycles (Illumina, США). Амплификацию таргетных регионов проводили с немечеными праймерами из протокола BIOMED-2. Обработка данных секвенирования нового поколения (NGS) выполнялась с помощью программного обеспечения MIXCR (https://mixcr.com/mixcr/about/) [38].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для сравнения чувствительности и специфичности исследования по генам *TRG* и *TCB* методом КЭ были оценены результаты определения клональности в образцах кожи при подозрении на лимфому кожи у 161 пациента. Результаты КЭ по генам *TRG* и *TCB* совпали в 88 % (141 из 161) исследованных образцов: 71 *TRG*+/*TRB*+, 69 *TRG*–/*TRB*–, 1 *TRG*±/*TRB*±. В 20 образцах результаты определения клональности по генам *TRG* и *TRB* не совпадали: в 9 случаях моноклональный или сомнительный результат был выявлен только по гену *TRG*, в 11 — только по гену *TRB*. Исследование дискордантных случаев показало, что в 14 из 16 случаев при наличии моноклонального результата по одному из локусов было подтверждено наличие опухолевого Т-клеточного поражения кожи. У 3 из 4 пациентов с сомнительной клональностью, которая была выявлена по одному из локусов, но с поликлональным результатом по другому локусу доказано неопухолевое поражение кожи (гистиоцитоз, спонгиотический дерматит, лихеноидный дерматит), в 1 случае выявлен ГМ стадии IA.

Для сравнения методов КЭ и ВПС проанализировано 14 образцов кожи (12 пациентов) и 11 образцов периферической крови у пациентов с ГМ, а также 17 образов кожи у пациентов с неопухолевыми дерматозами по двум локусам (*TRG* и *TRB*). Результаты КЭ и ВПС совпали в 100 % исследованных образцов. Т-клеточная моноклональность методом КЭ выявлена у 5 из 7 пациентов с начальными стадиями ГМ, у 2 из 2 — с распространенными стадиями ГМ, у 1 из 3 — с эритродермической формой ГМ. У этих пациентов аллельная нагрузка (АН) по данным ВПС доминирующего клона *TRG* варьировала от 5,5 до 83,4 % (в среднем 32,3 %), *TRB* — от 6,1 до 47,9 % (в среднем

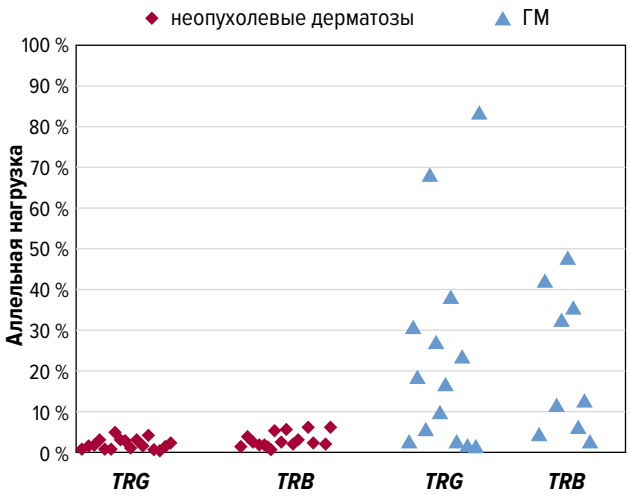

Рис. 1. Результаты определения аллельной нагрузки доминирующего клона *TRG* и *TRB*, полученные методом высокопроизводительного секвенирования, при неопухолевых дерматозах и грибовидном микозе (ГМ)

Fig. 1. Allelic load of the dominant *TRG* and *TRB* clones reported by high-throughput sequencing in non-neoplastic dermatoses and mycosis fungoides (ГМ)

20,8 %). Поликлональный результат методом КЭ был выявлен у 2 пациентов с начальными стадиями ГМ и у 2 — с эритродермической формой ГМ, а при использовании ВПС было показано, что АН доминирующего клона *TRG* и *TRB* не превышала 4,2 %. В контрольной группе неопухолевых дерматозов у всех пациентов зарегистрирован поликлональный результат методом КЭ, при этом АН доминирующих клонов при ВПС составляла 0,5–4,1 % (в среднем 1,9 %), *TRB* — 0,9–6,1 % (в среднем 3,1 %) (рис. 1). Во всех случаях, за исключением одного, получено достаточное количество прочтений *TRG* и *TRB*: в коже оно составило 8487–63 727 (медиана 35 782) для последовательностей локуса *TRG* и 4075–68 907 (медиана 26 390) для последовательностей локуса *TRB*.

У 2 пациентов с ГМ и исходным отсутствием Т-клеточной клональности были исследованы образцы кожи при прогрессировании заболевания через 10 и 4 года с момента первичной биопсии соответственно, чтобы определить, какой именно клон Т-клеток отвечал за опухолевую прогрессию. Результаты представлены в табл. 1 (пациенты № 1 и 2). Было показано, что опухолевый клон в первичной биопсии у первого пациента доминировал, но его АН была низкой — 2,2 и 4,2 % по генам *TRG* и *TRB* соответственно. У второго пациента опухолевый клон в первичном биоптате не попал даже в ТОП 30 первых клонов, его АН составляла 0,26 и 0,1 % по генам *TRG* и *TRB* соответственно.

Для оценки лейкемизации или минимальной диссеминированной болезни параллельно с кожей было проведено синхронное исследование 11 образцов периферической крови методом ВПС у пациентов с различными стадиями ГМ (см. табл. 1). Количество прочтений в образцах крови составило 36 087–70 881 (медиана 54 457) для последовательностей локуса *TRG* и 2963–37 824 (медиана 23 075) для последовательностей локуса *TRB*. Только у 2 из 7 пациентов с начальными стадиями ГМ при исследовании крови

Таблица 1. Результаты определения Т-клеточной клональности по локусам *TRG* и *TRB* в образцах кожи и периферической крови у пациентов с ГМ методами КЭ и ВПС

Пациент, стадия ГМ, дата повторного обследования	Образец; результат КЭ	Результат ВПС TRG: аллельная нагрузка (%); V-J-перестройка; аминокислотная последовательность CDR3	Образец; результат КЭ	Результат ВПС TRG: аллельная нагрузка (%); V-J-перестройка; аминокислотная последовательность CDR3
Пациент № 1, ГМ IB 2011 г.	Кожа; *TRG*–	2,23; Vg4-Jg1/2; CATWDGVKKLF	Кожа; *TRB*–	4,2; Vb14-Jb1.6; CASSQEAG#QGNSPLHF 0,6; Vb6.6-Jb1.2; CASSPDRGGGYTF
	Кровь; *TRG*–	Не обнаружен	Кровь; *TRB*–	Не обнаружен
Пациент № 1, ГМ IVA 2021 г.	Кожа; *TRG*+	30,5; Vg4-Jg1/2; CATWDGVKKLF	Кожа; *TRB*+	41,75; Vb14-Jb1.6; CASSQEAG#QGNSPLHF 10,2; Vb6.6-Jb1.2; CASSPDRGGGYTF
	Кровь; *TRG*–	0,024; Vg4-Jg1/2; CATWDGVKKLF	Кровь; *TRB*–	0,037; Vb14-Jb1.6; CASSQEAG#QGNSPLHF
Пациент № 2, ГМ IIA 2017 г.	Кожа; *TRG*–	0,26; Vg3-Jg1/2; CATWAP#YYKKLF 0,21; Vg4-Jg1/2; CATWDGLGNVDYYKKLF	Кожа; *TRB*–	0,1; Vb27-Jb23; CASSSGGESGDHFTDTQYF
	Кровь; *TRG*–	Не обнаружен	Кровь; *TRB*–	Не обнаружен
Пациент № 2, ГМ IIB 2021 г.	Кожа; *TRG*+	23,4; Vg4-Jg1/2; CATWDGLGNVDYYKKLF 14,1; Vg3-Jg1/2; CATWAP#YYKKLF	Кожа; *TRB*+	9,0; Vb27-Jb23; CASSSGGESGDHFTDTQYF 3,2; Vb20.1-Jb24; CSASQIYS#GGPDIQYF
	Кровь; *TRG*–	Не обнаружен	Кровь; *TRB*–	Не обнаружен
Пациент № 3, ГМ IVA	Кожа; *TRG*+	18,38; Vg10-Jg1/2; CAAWDYYKKLF	Кожа; *TRB*+	НД
	Кровь; *TRG*–	2,1; Vg10-Jg1/2; CAAWDYYKKLF	Кровь; *TRB*–	НД
Пациент № 4, ГМ IA	Кожа; *TRG*+ (4 пика при КЭ)	5,5; Vg2-Jg1/2; CATWDGPDLGFDKKLF 5,1; Vg4-Jg1/2; CATWDFYYKKLF 4,6; Vg8-Jg1/2; CATWGHR#EGGKLF 4,2; Vg2-Jg1/2; CATWDGPV#FYYKKLF	Кожа; *TRB*+	11,22; Vb15-Jb1.2; CATSRVPGQGPNYGYTF
	Кровь; *TRG*–	Не обнаружен	Кровь; *TRB*–	Не обнаружен
Пациент № 5, ГМ IIA	Кожа; *TRG*+	68,2; Vg8-JgP1; CAT**SDTGWFKIF	Кожа; *TRB*+	32,4; Vb5.1-Jb2.7; CASSLGAGAYEQYF 10,1; Vb7.7-Jb1.1; CASSLA*#GVTEAFF
	Кровь; *TRG*+/–	10,0; Vg9-JgP1; CAPQL#FKIF 0,042; Vg8-JgP1; CAT**SDTGWFKIF	Кровь; *TRB*–	Не обнаружен
Пациент № 6, ГМ IIA	Кожа; *TRG*+	27,2; Vg8-Jg1/2; CATWDKGYKKLF 16,6; Vg10-Jg1/2; CAAWDAT#NYYKKLF	Кожа; *TRB*+	47,85; Vb4.1-Jb1.6; CASSPRTGGDSPLHF 36,12; Vb20.1-Jb1.2; CSALDSP#PNYGYTF
	Кровь; *TRG*–	Не обнаружен	Кровь; *TRB*–	Не обнаружен
Пациент № 7, ГМ IB	Кожа; *TRG*+	9,5; Vg5-Jg1/2; CATWD#GGKLF 8,6; Vg8-Jg1/2; CATWERDP#NYYKKLF	Кожа; *TRB*+	35,13; Vb5.8-Jb1.6; CASSYGTYNSPLHF
	Кровь; *TRG*–	0,044; Vg5-Jg1/2; CATWD#GGKLF 0,054; Vg8-Jg1/2; CATWERDP#NYYKKLF	Кровь; *TRB*–	Не обнаружен
Пациент № 8, ГМ IIA	Кожа; *TRG*+	16,9; Vg10-Jg1/2; CAAWDYRCYYKKLF 7,28; Vg2-Jg1/2; CATWDGR#*AEKLF	Кожа; *TRB*+/–	6,1; Vb7.5-Jb1.1; CISVPEAPI#WGDTEAFF 3,7; Vb7.2-Jb2.7; CASSQLERPAYEQYF
	Кровь; *TRG*–	Не обнаружен	Кровь; *TRB*–	Не обнаружен
Пациент № 9, ГМ IV	Кожа; *TRG*+	38,2; Vg2-Jg1/2; CATWDGR#YYKKLF 30,3; Vg2-Jg1/2; CATRENKKLF	Кожа; *TRB*+	12,39; Vb5.4-Jb1.3; CASSFTPDSGNTIYF
	Кровь; *TRG*–	Не обнаружен	Кровь; *TRB*–	Не обнаружен

ВПС — высокопроизводительное секвенирование; ГМ — грибовидный микоз; КЭ — капиллярный электрофорез; НД — нет данных; # — CDR3-регион вне рамки считывания; * — стоп-кодон.

выявлена минимальная диссеминированная болезнь с АН опухолевого клона 0,042 и 0,054 % по локусу *TRG* соответственно (пациенты № 5 и 7). При этом опухолевый клон не был найден при исследовании локуса *TRB*, что, скорее всего, связано с меньшим количеством прочтений по данному локусу. Интересно, что у пациента № 5 в крови доминировал реактивный клон Т-клеток с АН 10 % по локусу *TRG*, который привел к сомнительному моноклональному результату при КЭ. У 2 из 4 пациентов (№ 1 (2022 г.) и 3) с распространенной (IIB–IV) стадией процесса был обнаружен опухолевый клон. АН доминирующего клона *TRG* у этих пациентов составляла 0,024 и 2,1 % соответственно. У 2 пациентов (№ 2 (2022 г.) и 9) с распространенной стадией, несмотря на обнаружение значительного клона в коже 23,2 и 38,2 % соответственно, признаков минимальной диссеминированной болезни не выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки клональности при Т-клеточных лимфомах исследуют локусы *TRG* и *TRB*. Предел детекции клональных клеток по локусам *TRG* и *TRB* методом КЭ варьирует от 1 до 20 % [37]. Чувствительность определения зависит от V- и J-сегментов, участвующих в перестройке TCR в опухолевой клетке, разнообразия репертуара поликлональных Т-лимфоцитов и их процентного содержания в образце. По нашим данным, значимого превосходства при оценке клональности только по одному из локусов (*TRG* или *TRB*) не обнаружено. Совместное определение клональности по локусам *TRG* и *TRB* привело к увеличению определения моноклональности в биоптатах кожи на 8,7 %. Результаты нашего исследования соответствуют данным других авторов, которые подтверждают, что

одновременная оценка локусов *TRB* и *TRG* повышает специфичность и чувствительность определения клональности [24, 25, 29, 33, 39]. Оценка дискордантных случаев с верифицированным диагнозом показала, что наличие положительного результата по одной из цепей локусов *TRG* или *TRB* должно расцениваться как положительный результат, т. к. в большинстве таких случаев было подтверждено опухолевое поражение кожи. Таким образом, для корректной интерпретации результатов клональности лучше оценивать весь профиль генных перестроек, однако исследование по локусам *TRB* и *TRG* имеет ряд особенностей и нюансов, которые необходимо учитывать.

Локус *TRG* достаточно просто устроен и менее требователен к качеству анализируемой ДНК. Изучение локуса *TRB* требует применения сложной мультиплексной системы праймеров и ДНК высокого качества. Это затрудняет исследование тканей, залитых в парафиновые блоки, в которых ДНК может быть сильно фрагментирована и деградирована. Таким образом, не всегда возможно параллельное или последовательное определение перестройки генов γ- и β-цепи TCR: для тканей с фрагментированной ДНК наиболее полезным и надежным является анализ гена *TRG,* а оценка *TRB* не рекомендуется в случае сильной фрагментации образцов ДНК.

В целом при использовании КЭ и алгоритма BIOMED-2 показано высокое совпадение результатов (88 %) при исследовании клональности по локусам *TRG* и *TRB*. Проще и дешевле начинать исследование биоптатов кожи с определения клональности по гену *TRG*. При моноклональном результате по гену *TRG* общий результат определения клональности необходимо расценивать как моноклональный, т. е. дальнейшего подтверждения клональности по гену *TRB* можно не проводить. При отрицательном (поликлональном) либо сомнительном результате и/или при наличии клинических показаний желательно подтвердить отсутствие моноклональности исследованием гена *TRB*.

При сравнении результатов КЭ и ВПС значимых различий между данными методами при исследовании клональности не получено: у пациентов с поликлональным результатом КЭ отмечалось разнообразие клональных продуктов при ВПС с доминирующим клоном менее 6,1 % и, наоборот, при моноклональном результате КЭ определялся доминирующий клон *TRG* или *TRB* с АН > 5,5 % при ВПС. Таким образом, существует серая зона, в которой невозможно по АН доминирующего клона разграничить опухолевый и реактивный процессы. Неопухолевые дерматозы демонстрируют довольно значительные доминирующие клоны, что может стать причиной ложноположительных результатов. Мы ни в одном случае неопухолевого дерматоза не отмечали моноклональную картину в биоптате кожи методом КЭ. Относительно небольшая выборка пациентов с неопухолевыми дерматозами делает наше исследование ограниченным. Из данных литературы и собственного опыта известно о возможности получения моноклонального результата в 10–26 % случаев исследования кожи при неопухолевых процессах [30–33]. Необходимо помнить, что обнаружение моноклональности не означает выявление опухоли. Невозможно определить четкие границы моноклональной опухолевой и реактивной популяций, что следует учитывать при интерпретации результатов, сопоставляя их с другими клинико-лабораторными данными.

У пациентов с ранними стадиями и эритродермическими формами ГМ, несмотря на схожие клинические и гистологические проявления, отмечалась гетерогенность по количеству опухолевых Т-лимфоцитов, инфильтрирующих кожу, и наличию/отсутствию минимальной диссеминированной болезни. У части пациентов с начальной стадией ГМ опухолевый клон был слишком мал и терялся среди реактивного окружения, что приводило к поликлональному результату КЭ и ВПС. По нашим данным, размеры реактивных клонов при ГМ достигают существенных величин, а последовательные биопсии выявляют персистенцию данных клонов, хотя и без тенденции к росту. Гетерогенность клонального состава при ГМ также подтверждается некоторыми авторами [40, 41]. В нашем исследовании, только основываясь на результатах повторных биопсий при прогрессировании процесса, удалось обнаружить доминирующий опухолевый клон. Наши данные являются наглядным подтверждением того факта, что диагностика начальных стадий ГМ, а также его эритродермических форм представляется нетривиальной задачей, требующей комплексного подхода и зачастую исследования кожных биоптатов в динамике [42, 43]. При поздних стадиях ГМ количество опухолевых клонов становится достаточно большим (АН > 25 %), что упрощает диагностику.

Важной проблемой при ГМ является прогнозирование течения заболевания и выделение группы высокого риска прогрессирования на ранней стадии заболевания (IA, IB, IIA). Примерно у 20 % пациентов с начальными стадиями ГМ развивается агрессивное, устойчивое к лечению заболевание, которое может привести к летальному исходу. В таких случаях актуально и целесообразно рассмотреть раннюю интеграцию клеточной терапии, в т. ч. трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. При этом сразу в нескольких исследованиях показано прогностически неблагоприятное значение обнаружения в кожном инфильтрате доминирующего клона *TRB* с АН > 25 % [44, 45]. У пациентов с ранней стадией это было связано со снижением общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования и имело более важное прогностическое значение, чем любой другой известный фактор (стадия IB по сравнению с IA, наличие бляшек, высокая концентрация лактатдегидрогеназы в крови, трансформация в крупноклеточную лимфому или возраст).

Одной из важных задач нашего исследования была оценка минимальной диссеминированной болезни методом ВПС. В ряде исследований показано, что вовлечение в опухолевый процесс регионарных лимфатических узлов или гематогенная диссеминация связаны с риском быстрого прогрессирования ГМ и являются предикторами неблагоприятного прогноза [46, 47]. Это подтверждают и собственные наблюдения: у 2 пациентов в нашем исследовании с начальной стадией ГМ в дебюте выявлена минимальная диссеминированная болезнь с последующим быстрым прогрессированием заболевания.

Метод ВПС в некоторых аспектах имеет очевидные преимущества перед КЭ, т. к. позволяет количественно оценить доминирующий клон Т-лимфоцитов и определить его нуклеотидную последовательность, оценить разнообразие поликлональных продуктов и амплификацию в целом (количество прочтений). Последние из перечисленных положений важно учитывать при интерпретации результатов ВПС, чтобы избежать ложноположительного результата. При КЭ такую оценку сложно провести, и при плохом качестве, фрагментированной ДНК или небольшом количестве Т-лимфоцитов в образце велика вероятность ложноположительного результата [48–50].

Поскольку чувствительность ВПС намного выше, чем КЭ, и в нашем случае достигает 10^{-4}, то только данный метод позволяет определить минимальную диссеминированную болезнь у пациентов с начальными стадиями ГМ в тех случаях, когда в биоптате кожи выявлена очевидная (бесспорная) моноклональная картина и определен доминирующий клон. При неудовлетворительной амплификации или сниженном числе прочтений уменьшается чувствительность определения минимальной диссеминированной болезни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метод ВПС, который является более трудоемким и дорогостоящим, практически не повышает специфичность и чувствительность определения Т-клеточной клональности в образцах кожи при первичной диагностике по сравнению с методом КЭ. Для оценки клональности в биоптатах кожи с подозрением на ГМ достаточно исследования локуса *TRG* методом КЭ, в случае отрицательного (поликлонального) результата требуется дополнительное исследование локуса *TRB*. Применение ВПС оправдано при начальных стадиях ГМ с нетипичным агрессивным течением болезни, т. е. в случаях, когда необходимо обеспечить количественную оценку клонального продукта в пораженном участке или оценить минимальную диссеминированную болезнь.

УВЕДОМЛЕНИЯ / ACKNOWLEDGMENT

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

DISCLOSURE. Authors declare no conflicts of interest.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ. Исследование не имело спонсорской поддержки.

FUNDING. This study received no external financial support.

ВКЛАД АВТОРОВ. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства, согласно международным критериям ICMJE. При этом наибольший вклад распределен следующим образом.

Концепция и дизайн: Л.Г. Горенкова, Ю.В. Сидорова.
Сбор и обработка данных: Л.Г. Горенкова, Ю.В. Сидорова, Е.О. Терехова, М.А. Моздон, Н.В. Рыжикова, З.М. Омарова.
Предоставление материалов исследования: Л.Г. Горенкова.
Анализ и интерпретация данных: Л.Г. Горенкова, Ю.В. Сидорова, Б.В. Бидерман.
Подготовка рукописи: Л.Г. Горенкова.
Окончательное одобрение рукописи: Л.Г. Горенкова, Ю.В. Сидорова, Б.В. Бидерман, Е.Е. Звонков, А.Б. Судариков.

AUTHOR CONTRIBUTION. All authors meet the ICMJE criteria for authorship and declare their special contribution as follows:
Conception and design: L.G. Gorenkova, Yu.V. Sidorova.
Data collection and processing: L.G. Gorenkova, Yu.V. Sidorova, E.O. Terekhova, M.A. Mozdon, N.V. Ryzhikova, Z.M. Omarova.
Research materials provision: L.G. Gorenkova.
Data analysis and interpretation: L.G. Gorenkova, Yu.V. Sidorova, B.V. Biderman.
Manuscript writing: L.G. Gorenkova.
Final approval of manuscript: L.G. Gorenkova, Yu.V. Sidorova, B.V. Biderman, E.E. Zvonkov, A.B. Sudarikov.

СОГЛАСИЕ НА ПУБЛИКАЦИЮ. От всех пациентов получено письменное информированное согласие на публикацию.

CONSENT FOR PUBLICATION. Written informed consent for publication was obtained from all patients.

ЭТИЧЕСКОЕ ОДОБРЕНИЕ. Не требуется.

ETHICS APPROVAL. Not required.

ORCID

Л.Г. Горенкова — https://orcid.org/0000-0002-3967-9183
Ю.В. Сидорова — https://orcid.org/0000-0003-1936-0084
Б.В. Бидерман — https://orcid.org/0000-0002-6253-3334
Н.В. Рыжикова — https://orcid.org/0000-0003-2424-9524
М.А. Моздон — https://orcid.org/0009-0008-1358-6203
Е.О. Терехова — https://orcid.org/0009-0007-6495-8196
З.М. Омарова — https://orcid.org/0009-0004-6719-4775
Е.Е. Звонков — https://orcid.org/0000-0002-2639-7419
А.Б. Судариков — https://orcid.org/0000-0001-9463-9187

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Lefranc M-P, Lefranc G. The T Cell Receptor FactsBook. London: Academic Press; 2001.
2. Janeway CA, Travers P, Walport M, et al. T-cell receptor gene rearrangement. In: The immune system in health and disease. New York: Garland Science; 2001.
3. Rezuke WN, Abernathy EC, Tsongalis GJ. Molecular diagnosis of B- and T-cell lymphomas: fundamental principles and clinical applications. Clin Chem. 1997;43(10):1814–23.

4. Cossman J, Uppenkamp M, Andrade R, Medeiros LJ. T-cell receptor gene rearrangements and the diagnosis of human T-cell neoplasms. Crit Rev Oncol Hematol. 1990;10(3):267–81. doi: 10.1016/1040-8428(90)90035-q.

5. Mahe E, Pugh T, Kamel-Reid S. T cell clonality assessment: past, present and future. J Clin Pathol. 2018;71(3):195–200. doi: 10.1136/jclinpath-2017-204761.

6. Amagai M, Hayakawa K, Amagai N, et al. T cell receptor gene rearrangement analysis in mycosis fungoides and disseminated lymphocytoma cutis. Dermatologica. 1990;181(3):193–6. doi: 10.1159/000247922.

7. Wood GS, Bahler DW, Hoppe RT, et al. Transformation of mycosis fungoides: T-cell receptor beta gene analysis demonstrates a common clonal origin for plaque-type mycosis fungoides and CD30+ large-cell lymphoma. J Invest Dermatol. 1993;101(3):296–300. doi: 10.1111/1523-1747.ep12365416.

8. Giorli E, Traverso E, Benedetti L, et al. Central nervous system involvement in mycosis fungoides: relevance of TCR gene testing in cerebrospinal fluid. Springerplus. 2014;3:29. doi: 10.1186/2193-1801-3-29.

9. Lynch JW Jr, Linoilla I, Sausville EA, et al. Prognostic implications of evaluation for lymph node involvement by T-cell antigen receptor gene rearrangement in mycosis fungoides. Blood. 1992;79(12):3293–9.

10. Weiss LM, Hu E, Wood GS, et al. Clonal rearrangements of T-cell receptor genes in mycosis fungoides and dermatopathic lymphadenopathy. N Engl J Med. 1985;313(9):539–44. doi: 10.1056/NEJM198508293130903.

11. Bertness V, Kirsch I, Hollis G, et al. T-cell receptor gene rearrangements as clinical markers of human T-cell lymphomas. N Engl J Med. 1985;313(9):534–8. doi: 10.1056/NEJM198508293130902.

12. O'Connor NT, Wainscoat JS, Weatherall DJ, et al. Rearrangement of the T-cell-receptor beta-chain gene in the diagnosis of lymphoproliferative disorders. Lancet. 1985;1(8441):1295–7. doi: 10.1016/s0140-6736(85)92791-6.

13. Dosaka N, Tanaka T, Fujita M, et al. Southern blot analysis of clonal rearrangements of T-cell receptor gene in plaque lesion of mycosis fungoides. J Invest Dermatol. 1989;93(5):626–9. doi: 10.1111/1523-1747.ep12319746.

14. Taylor JJ, Rowe D, Williamson IK, et al. Detection of T-cell receptor gamma chain V gene rearrangements using the polymerase chain reaction: application to the study of clonal disease cells in acute lymphoblastic leukemia. Blood. 1991;77(9):1989–95.

15. Wood GS, Tung RM, Haeffner AC, et al. Detection of clonal T-cell receptor gamma gene rearrangements in early mycosis fungoides/Sezary syndrome by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis (PCR/DGGE). J Invest Dermatol. 1994;103(1):34–41. doi: 10.1111/1523-1747.ep12389114.

16. Langerak AW, Groenen PJ, Brüggemann M, et al. EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. Leukemia. 2012;26(10):2159–71. doi: 10.1038/leu.2012.246.

17. Boone E, Groenen PJTA, Langerak AW. PCR GeneScan Analysis of Rearranged Immunoglobulin or T-Cell Receptor Genes for Clonality Diagnostics in Suspect Lymphoproliferations. Methods Mol Biol. 2025;2865:77–102. doi: 10.1007/978-1-0716-4188-0_4.

18. Boone E, Heezen KC, Groenen PJTA, Langerak AW; EuroClonality Consortium. PCR GeneScan and Heteroduplex Analysis of Rearranged Immunoglobulin or T-Cell Receptor Genes for Clonality Diagnostics in Suspect Lymphoproliferations. Methods Mol Biol. 2019;1956:77–103. doi: 10.1007/978-1-4939-9151-8_4.

19. Linnemann C, Heemskerk B, Kvistborg P, et al. High-throughput identification of antigen-specific TCRs by TCR gene capture. Nat Med. 2013;19(11):1534–41. doi: 10.1038/nm.3359.

20. Shinohara MM, Rieger KE, Sundram U, et al. Assessing T-cell receptor clonality by next-generation sequencing in atypical cutaneous lymphoid infiltrates and cutaneous T-cell lymphoma: A scoping review. J Cutan Pathol. 2024;51(10):813–9. doi: 10.1111/cup.14694.

21. Groenen PJTA, van den Brand M, Kroeze LI, et al. Read the clonotype: Next-generation sequencing-based lymphocyte clonality analysis and perspectives for application in pathology. Front Oncol. 2023;13:1107171. doi: 10.3389/fonc.2023.1107171.

22. Van Dongen JJ, Wolvers-Tettero IL. Analysis of immunoglobulin and T cell receptor genes. Part I: basic and technical aspects. Clin Chim Acta. 1991;198(1–2):1–91. doi: 10.1016/0009-8981(91)90246-9.

23. Vantourout P, Hayday A. Six-of-the-best: unique contributions of γδ T cells to immunology. Nat Rev Immunol. 2013;13(2):88–100. doi: 10.1038/nri3384.

24. Brüggemann M, White H, Gaulard P, et al. Powerful strategy for polymerase chain reaction-based clonality assessment in T-cell malignancies Report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4 CT98-3936. Leukemia. 2007;21(2):215–21. doi: 10.1038/sj.leu.2404481.

25. Lukowsky A, Muche JM, Möbs M, et al. Evaluation of T-cell clonality in archival skin biopsy samples of cutaneous T-cell lymphomas using the biomed-2 PCR protocol. Diagn Mol Pathol. 2010;19(2):70–7. doi: 10.1097/PDM.0b013e3181b2a1b7.

26. Bachelez H, Bioul L, Flageul B, et al. Detection of clonal T-cell receptor gamma gene rearrangements with the use of the polymerase chain reaction in cutaneous lesions of mycosis fungoides and Sézary syndrome. Arch Dermatol. 1995;131(9):1027–31.

27. Smith BD, Wilson LD. Management of mycosis fungoides. Part 1. Diagnosis, staging, and prognosis. Oncology (Williston Park). 2003;17(9):1281–8.

28. Ponti R, Quaglino P, Novelli M, et al. T-cell receptor gamma gene rearrangement by multiplex polymerase chain reaction/heteroduplex analysis in patients with cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides/Sézary syndrome) and benign inflammatory disease: correlation with clinical, histological and immunophenotypical findings. Br J Dermatol. 2005;153(3):565–73. doi: 10.1111/j.1365-2133.2005.06649.x.

29. Sandberg Y, Heule F, Lam K, et al. Molecular immunoglobulin/T-cell receptor clonality analysis in cutaneous lymphoproliferations. Experience with the BIOMED-2 standardized polymerase chain reaction protocol. Haematologica. 2003;88(6):659–70.

30. Klemke CD, Dippel E, Dembinski A, et al. Clonal T cell receptor gamma-chain gene rearrangement by PCR-based GeneScan analysis in the skin and blood of patients with parapsoriasis and early-stage mycosis fungoides. J Pathol. 2002;197(3):348–54. doi: 10.1002/path.1133.

31. Zhang B, Beck AH, Taube JM, et al. Combined use of PCR-based TCRG and TCRB clonality tests on paraffin-embedded skin tissue in the differential diagnosis of mycosis fungoides and inflammatory dermatoses. J Mol Diagn. 2010;12(3):320–7. doi: 10.2353/jmoldx.2010.090123.

32. Dabiri S, Morales A, Ma L, et al. The frequency of dual TCR-PCR clonality in granulomatous disorders. J Cutan Pathol. 2011;38(9):704–9. doi: 10.1111/j.1600-0560.2011.01727.x.

33. Raess PW, Bagg A. The role of molecular pathology in the diagnosis of cutaneous lymphomas. Patholog Res Int. 2012;2012:913523. doi: 10.1155/2012/913523.

34. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. (eds.) WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th edition revised, Vol. 2. Lyon: IARC Press; 2017.

35. Sidorova JV, Biderman BV, Nikulina EE, Sudarikov AB. A simple and efficient method for DNA extraction from skin and paraffin-embedded tissues applicable to T-cell clonality assays. Exp Dermatol. 2012;21(1):57–60. doi: 10.1111/j.1600-0625.2011.01375.x

36. Сидорова Ю.В., Сорокина Т.В., Бидерман Б.В. и др. Определение минимальной остаточной болезни у больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом методом пациент-специфичной ПЦР. Клиническая лабораторная диагностика. 2011;12:22–35. [Sidorova Yu.V., Sorokina T.V., Biderman B.V., et al. The detection of minimal residual disease in patients with chronic B-cell lymphocytic leukemia using patient-specified polymerase chain reaction. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2011;12:22–35. (In Russ)]

37. Van Dongen JJM, Langerak AW, Bruggemann M, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia. 2003;17(12):2257–317. doi: 10.1038/sj.leu.2403202.

38. Bolotin DA, Poslavsky S, Mitrophanov I, et al. MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling. Nat Methods. 2015;12(5):380–1. doi: 10.1038/nmeth.3364.

39. Van Krieken JH, Langerak AW, Macintyre EA, et al. Improved reliability of lymphoma diagnostics via PCR-based clonality testing: report of the BIOMED-2 Concerted Action BHM4-CT98-3936. Leukemia. 2007;21(2):201–6. doi: 10.1038/sj.leu.2404467.

40. Humme D, Lukowsky A, Gierisch M, et al. T-cell receptor gene rearrangement analysis of sequential biopsies in cutaneous T-cell lymphomas with the Biomed-2 PCR reveals transient T-cell clones in addition to the tumor clone. Exp Dermatol. 2014;23(7):504–8. doi: 10.1111/exd.12453.

41. Iyer A, Hennessey D, O'Keefe S, et al. Clonotypic heterogeneity in cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides) revealed by comprehensive whole-exome sequencing. Blood Adv. 2019;3(7):1175–84. doi: 10.1182/bloodadvances.2018027482.

42. Pimpinelli N, Olsen EA, Santucci M, et al. Defining early mycosis fungoides. J Am Acad Dermatol. 2005;53(6):1053–63. doi: 10.1016/j.jaad.2005.08.057.

43. Vandergriff T, Nezafati KA, Susa J, et al. Defining early mycosis fungoides: validation of a diagnostic algorithm proposed by the International Society for Cutaneous Lymphomas. J Cutan Pathol. 2015;42(5):318–28. doi: 10.1111/cup.12470.

44. De Masson A, O'Malley JT, Elco CP, et al. High-throughput sequencing of the T cell receptor β gene identifies aggressive early-stage mycosis fungoides. Sci Transl Med. 2018;10(440):eaar5894. doi: 10.1126/scitranslmed.aar5894.

45. Zimmermann C, Boisson M, Ram-Wolff C, et al. Diagnostic performance of high-throughput sequencing of the T-cell receptor beta gene for the diagnosis of cutaneous T-cell lymphoma. Br J Dermatol. 2021;185(3):679–80. doi: 10.1111/bjd.20432.

46. Allen PB, McCook-Veal AA, Switchenko JM, et al. Staging lymph nodes and blood at diagnosis in mycosis fungoides identifies patients at increased risk of progression to advanced stage: A retrospective cohort study. Cancer. 2023;129(4):541–50. doi: 10.1002/cncr.34579.

47. Vermeer MH, Nicolay JP, Scarisbrick JJ, Zinzani PL. The importance of assessing blood tumour burden in cutaneous T-cell lymphoma. Br J Dermatol. 2021;185(1):19–25. doi: 10.1111/bjd.19669.

48. Groenen PJ, Langerak AW, van Dongen JJ, van Krieken JH. Pitfalls in TCR gene clonality testing: teaching cases. J Hematop. 2008;1(2):97–109. doi: 10.1007/s12308-008-0013-9.

49. Yakirevich E, Jackson CL, Meitner PA, et al. Analysis of T-cell clonality using laser capture microdissection and high-resolution microcapillary electrophoresis. J Mol Diagn. 2007;9(4):490–7. doi: 10.2353/jmoldx.2007.070006.

50. Lenze D, Müller HH, Hummel M. Considerations for the use of formalin-fixed and paraffin-embedded tissue specimens for clonality analysis. J Hematopathol. 2012;5:27–34. doi: 10.1007/s12308-012-0138-8.